

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-198325

(43)Date of publication of application : 15.07.2004

(51)Int.Cl.

G01N 33/68

(21)Application number : 2002-368955

(71)Applicant : ORIENTAL YEAST CO LTD

(22)Date of filing : 19.12.2002

(72)Inventor : NAGAMURA YOICHI
ITO YASUHIRO
MATSUKAWA HIROKAZU
TANAKA TOSHIO
NAKAO YOSHIKI

(54) METHOD OF MEASURING STRESS

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a novel marker for estimating a stress after an exercise in a mammal, and a method for measuring the stress easily using the marker.

SOLUTION: A rate of change of a KYN concentration in blood or a rate of change of a TRP concentration in the blood is measured after the exercise in the mammal, and a degree of the stress is measured using a value therein as an index.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-198325

(P2004-198325A)

(43) 公開日 平成16年7月15日(2004.7.15)

(51) Int. Cl.⁷

G01N 33/68

F I

G01N 33/68

テーマコード(参考)

2G045

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2002-368955 (P2002-368955)
(22) 出願日 平成14年12月19日(2002.12.19)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成14年7月7日開催の「第13回日本臨床化学会東海北陸支部総会」において文書をもって発表

(71) 出願人 000103840
オリエンタル酵母工業株式会社
東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号
(72) 発明者 長村 洋一
愛知県豊明市沓掛町桑ヶ窪1-98 藤田
保健衛生大学内
(72) 発明者 伊藤 康宏
愛知県豊明市沓掛町桑ヶ窪1-98 藤田
保健衛生大学内
(72) 発明者 松川 寛和
東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号 オ
リエントタル酵母工業株式会社内
(72) 発明者 田中 俊夫
東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号 オ
リエントタル酵母工業株式会社内
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ストレスの測定方法

(57) 【要約】

【課題】 哺乳動物の運動負荷後のストレスを推し測る新規マーカー、及びそれを用いてストレスを簡便に測定する方法を提供する。

【解決手段】 哺乳動物の運動負荷前後における血中KYN濃度の変化率または血中TRP濃度の変化率を測定し、その値を指標とし、ストレスの度合を測定する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

哺乳動物の血液中に存在するトリプトファンの濃度の変化率を指標にストレスを測定することを特徴とする測定方法。

【請求項 2】

哺乳動物の血液中に存在するトリプトファン代謝産物の濃度の変化率を指標にストレスを測定することを特徴とする測定方法。

【請求項 3】

トリプトファン代謝産物がキヌレニンであることを特徴とする、請求項 2 に記載の測定方法。

10

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、哺乳動物のストレスの測定方法に関する。より詳細には、血中トリプトファン濃度の上昇率または血中キヌレニン濃度の上昇率をマーカーとし、ストレスとの相関関係について統計学的に解析を行い、その結果を基に、哺乳動物のストレスを簡便に測定する方法に関するものである。

【0002】**【従来の技術】**

近年、「スポーツ心理学」という学問分野が出現し、各種研究機関において研究が盛んに行われ、トレーニング時の心理状態やモチベーション等をも考慮に入れたトレーニング環境・条件整備の必要性が強調されつつある。その結果、従来行われてきたいわゆる「根性」トレーニングのように機械的な身体活動の盲目的な反復作業が遠ざけられ、代わりに選手のコンディション管理の一項目として採用されつつある重視されている。すなわちオーバートレーニングによる精神的ストレス蓄積を防止し、選手の精神面での健全さを維持しつつモチベーションを高揚させることにより選手の練習効率を向上させる、という管理も重要な要素となってきた。

20

【0003】

選手の心理状態を管理するためには、選手の心理状態を的確に把握する必要がある。しかしながら、人間の心理状態は周囲の様々な環境の変化により敏感に変化するものであり、また選手の性格等により、心理状態の変化の現れも多様であるため、第三者がそれらを客観的に把握することは非常に困難である。

30

【0004】

従来、ストレスの測定方法として、心拍間隔である RRI 指標の変化を指標とする方法（特開平11-151231、特開平10-137228、特開平10-5184、）、脳波の変化を指標とする方法（特開平11-19075）、生体内物質（ホルモン等）の分泌量を指標とする方法（例えば唾液中の α アミラーゼを指標とする方法（特開2002-168860）、副腎皮質ホルモンを指標とする方法（特開平11-19076）、尿中アドレナリンを指標とする方法（豊田中央研究所 R&D レビュー Vol.33 No.4）、唾液中クロモグラニン A を指標とする方法（豊田中央研究所 R&D レビュー Vol.34 No.3）など。）、精神的ストレス関連タンパク質を免疫学的に測定する方法（特開平9-152430）などが提案されてきた。

40

【0005】**【発明が解決しようとする課題】**

しかしながら、上記のうち心拍数や脳波を測定する電気生理的方法は、いずれも負荷を与えられている時点でのストレスの測定方法であり、運動負荷後の一定期間におけるストレスを測定するという目的には不適當であり、また運動負荷を与えられている際には測定のため体表面に電極を接着しなければならず、実用的でない。

【0006】

また、上記のうち生体内物質の分泌を指標とする生理学的方法でも同様、負荷を与えられている時点でのストレスの測定方法としては優れているが、運動負荷を除去した直後にそ

50

これらの測定値が平常値に回復するため、運動負荷後の一定期間におけるストレスを測定することは困難である。以上より理解できるように、運動負荷を与えてから一定期間後のストレスマーカーとして、有効なものはこれまで存在しなかった。

【0007】

【課題を解決するための手段】

上記課題を解決すべく、簡便で正確な測定方法について鋭意研究を行った結果、血液中のキヌレニン濃度及びトリプトファン濃度に着目するに至り、発明の完成に至った。トリプトファン (TRP) はヒトを含む哺乳動物において必須アミノ酸のひとつとしてよく知られている。生体内の代謝経路を経て、キヌレン酸やキヌレニン (KYN) などの生体色素、セロトニン、メラトニンなどのホルモン、NAD、アルカロイド、植物成長ホルモンであるオーキシンなどが生体内で産生される。このような種々の生理活性物質の前駆体としてTRPは利用されている。いったん、代謝経路が遺伝的な要因などによりブロックされると、たとえば、TRPからKYNへの代謝経路に障害が生じると、血中や尿中のトリプトファン濃度が高まりトリプトファン血症の症状を呈するようになる。また、KYNからのニコチン酸合成がおこらない点でニコチン酸欠乏症を呈するようになる(東京化学同人『生化学辞典(第3版)』、1998年、990ページ)。

10

20

【0008】

KYNは、TRP代謝の中間産物で、動物体内においては、おもに肝臓でTRPのインドール環の酸化的開裂により生じる。ラット脳組織では、大脳皮質下にもっとも高濃度で存在しており、老化ラット脳液中でのKYN濃度上昇やてんかん性E1マウスの脳内物質での高含量の点からKYNの中樞神経系への関与が示唆されている。また、マウスのアストログリア組織培養系に対して神経成長因子の合成を促進する作用も明らかとなっている(東京化学同人『生化学辞典(第3版)』1998年、353~354ページ)。

【0009】

これらの点に関しては従来明らかとされていたが、ストレスと血中TRP濃度およびKYNの変化との関連、あるいはKYNの中樞神経系への関与が示唆されているにも拘わらず、運動負荷のような疲労にもとづくストレスと血中KYN濃度変化との関連はこれまで解明されていなかった。

【0010】

発明者は鋭意研究の結果、運動負荷の後における全ストレス指数、例えばPOMS試験(Profile of Mood States)の得点の変化率と血中KYN濃度の変化率との間に相関が存在し、ストレスの軽重を推し測るマーカーになりうることを明らかにした。

【0011】

また発明者は鋭意研究の結果、TRP濃度の変化率とKYN濃度の変化率との間に一定の相関関係を見出し、それらの組合せが効果的なストレスマーカーとなることを明らかにした。

【0012】

また発明者は鋭意研究の結果、上記ストレスマーカーが、運動負荷を与えられている最中のみならず運動負荷後一定期間にわたり使用可能であることを見出した。

【0013】

そこで発明者は、血液中のTRP濃度あるいはKYN濃度の変化と運動負荷によるストレス、特にPOMS試験により評価されるストレスとの相関関係を利用することにより、運動負荷後のストレスを簡便に測定出来るのではないかと想到し、本発明を完成するに至った。すなわち本発明は、運動負荷前後の血液中のKYN濃度又はTRP濃度の変化率を指標にし、運動負荷後のストレスを測定することを特徴とする、ストレスの測定方法である。

40

【0014】

望ましくは、本発明は、運動負荷前後の血液中のKYN濃度又はTRP濃度の変化率を指標にし、運動負荷前後のPOMS試験結果の変化と照合することにより、運動負荷後のストレスを測定することを特徴とする、ストレスの測定方法である。

【0015】

なお、本発明でいう運動負荷とは、スポーツなどの肉体的・物理的な運動・動作のことを

50

指す。また、本発明でいうストレスとは、上記運動負荷により生じる主観的な情緒変化のことを指し、例えばPOMS試験により得られる数値の変化が挙げられる。

【0016】

【発明の実施の形態】

本発明は、哺乳類の運動負荷前後の血中KYN濃度の変化率または血中TRP濃度の変化率を指標に、運動負荷後のストレスを簡便に測定する方法に関するものである。

【0017】

血中KYN又は血中TRP濃度の変化率とは、運動負荷が与えられていない平常時におけるそれらの濃度を基準とし、運動負荷を与えた後の血中KYN又は血中TRP濃度から算出した変化率のことを指す。

10

【0018】

血液中のTRP濃度及びKYN濃度の測定は、一般的な酵素法などを用いることも可能であるが、分光光度計、HPLC等による吸光度測定に基づく分析が望ましい。すなわちTRPの吸収スペクトルは280nmであり、またKYNのそれは365nmであることが公知であるため、それらを測定波長として解析することが可能である。

【0019】

次にストレスの評価であるが、例えばヒトの場合では自己評価式抑うつ性尺度（SDS）、顕在性不安検査（MAS）あるいはミネソタ人格目録（MMPI）などの方法が現在公知だが、特にスポーツや重労働を行った後の総合的な精神的ストレスを測定することができる点、及び被験者の性格傾向ではなく運動負荷後の一時的な気分の変化を測定できる点でPOMS試験が望ましい。

20

【0020】

POMS試験は、McNairらにより考案された、人間の情動を気分・感情・情緒といった主観的側面から解析するために用いられる試験方法である。POMS試験は、過去一週間における気分の状態について55項目のアンケートに5段階で回答することにより、以下の6種類の気分尺度を測定することを特徴とする。特にスポーツ医学においては、スポーツ選手のオーバートレーニングによる精神的重圧感を早期に発見し、それによる様々な障害を予防するためにしばしば用いられる。またPOMS試験はスポーツ心理学のみならず、産業ストレス、各種疾患の患者の心理状態あるいは薬物療法の効果判定にも用いられる試験方法としても知られている。

30

【表1】

1. Tension-Anxiety: 緊張-不安	T-A得点
2. Depression: 抑うつ	D得点
3. Anger-Hostility: 怒り-敵意	A-H得点
4. Vigor: 活気	V得点
5. Fatigue: 疲労	F得点
6. Confusion: 混乱	C得点

【0021】

また、V得点以外の5尺度（すなわちネガティブな情緒変化）の得点を合計し、更にそこからV得点（すなわちポジティブな情緒変化）を引いた値をTMD（Total Mood Disturbance）値という。これは被験者のストレスを大まかに把握するための指標として使用されている。ただしPOMS試験の結果には個人差が存在するため、注意が必要である。

40

【0022】

また、予め複数の被験者における血中KYN濃度の変化率または血中TRP濃度の変化率と当該運動後のストレスに関するデータを蓄積し、更にそれらを統計学的に処理し、両者の相関関係を示した計算式を作成し、その後ある特定の被験者における血中KYN濃度の変化率または血中TRP濃度の変化率を個別に測定し、それらを前記計算式に代入することにより、ストレスを算出することも可能である。

【0023】

50

統計処理の対象となる母集団は、不特定多数の被験者でも良いが、ストレスの度合は運動負荷の量、種類やその他の各種環境条件により変化するため、望ましくはそれらの条件を特定した母集団のデータを用いて処理を行うのが望ましい。

【0024】

このようにして解析を行い、ストレスの度合が高まっていると評価される被験者に対しては、休養を採らせるなどの措置を講じることが可能となる。

【0025】

なお、本発明のストレス測定方法は、ヒトのみならず他の哺乳動物にも応用が可能である。すなわち、特に情緒の変化が正確に把握することが困難なヒト以外の哺乳動物、例えば競走馬などにも応用が可能である。

10

【0026】

【実施例】

以下に本発明の実施例を示すが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

（試験例1） 血中TRP濃度および血中KYN濃度の測定

被験者から採取した新鮮血清ならびに凍結保存血清（200 μ L）を1/10量（20 μ L）の水冷却した2.4M過塩素酸とともによく混合し、生じた白濁状態の懸濁液を15分間氷冷後遠心分離し、析出したタンパク質を沈殿させた。得られた清澄な上清を試料とし下記の表1記載の条件下にて、HPLCによりTRPとKYNの直接分析を行った。

【表2】

(HPLC条件)	
ポンプ装置	LC-10AD(島津製作所製)
カラム	CHEMCOSORB 7-ODS-H (4.6 \times 250mm)
検出器	SPD-6A(島津製作所製)とUV-8020(東ソー製)の併用
検出波長	TRP:280nm, KYN:365nm
流速	1mL/min
溶出方法	アイソクラティック
展開溶媒	0.1M酢酸緩衝液-2%アセトニトリル(pH4.65)

20

【0027】

上記HPLC条件下にて、TRPおよびKYNの標準物質を用いて溶出保持時間を確認したところ、TRPは18分目に、KYNは9分目に溶出され良好な同時分別分析の結果となった。また、TRPは試料液あたり2 μ M（40pmol/ショット）～10 μ M（200pmol/ショット）までの直線的な定量分析範囲を示した。KYNでは0.5 μ M（10pmol/ショット）～8 μ M（260pmol/ショット）とより高感度な定量分析範囲となった。血清試料分析における添加回収率は、TRPで105.6%、KYNでは100.2%を示し十分な特異性を有することが分かった。また、分析操作間における再現性(CV値：(標準偏差÷平均%)は0.1～0.2%と高い精度であった。

30

【0028】

（試験例2） 運動前後の血中TRPおよびKYN濃度変化

ハーフマラソン完走者42人を対象に、運動前後での血中TRP濃度およびKYN濃度の変動を測定し、その平均値を算出した。測定方法は、上記（試験例1）の方法に従った。また対照分析項目として、運動負荷によるエネルギー消費を考慮し、同被験者に関し血中グルコース(Glucose)濃度の変動を測定し、その平均値と比較した。その結果を下表にまとめた。その結果、グルコース濃度の変化率と比較し、TRP及びKYNの濃度変化率が大きく、明確な指標となり得ることが明らかとなった。

40

【表3】

	対照分析項目	本発明項目	
	Glucose (mg/mL blood)	TRP (μ M of serum)	KYN (μ M of serum)
運動前	112.6 \pm 13.1	52.33 \pm 14.17	1.71 \pm 0.33
運動後	109.0 \pm 8.1	73.51 \pm 6.64	2.21 \pm 0.60
運動前後での 変化率	-11.1%	40.5%	29.2%

【0029】

(実施例1) 運動負荷によるストレスと血中KYN濃度変化率との相関

愛知県内の大学の、18歳から21歳までのラグビー部員37人を被験者とし、一週間にわたる夏季合宿の前後におけるKYN濃度 (μ M)、並びにPOMS試験の結果 (T-A得点、D得点、A-H 10
得点、V得点、F得点及びC得点、すなわち「緊張-不安」、「抑うつ」、「怒り-敵意」、
「活気」、「疲労」及び「混乱」の6要素ならなる気分尺度) を測定した。なお、血中K
YN濃度の測定には、合宿開始の1日前及び合宿終了の2日後に被験者から採取した血液を
サンプルとして用いた。またPOMS試験は、合宿開始前の一週間及び合宿終了後一週間の上
記6要素からなる気分尺度をデータとして用いた。

【0030】

総合的なストレスを表す指標としてTMD (Total Mood Disturbance) 値 (T-A得点+D得点
+A-H得点+V得点+C得点-F得点) を採用し、TMD値の増加率が大きい上位10名を「TMD増
加群」、減少率が大きい上位10名を「TMD減少群」とし、それぞれの群におけるKYN変化率
の平均値を計算した。その結果、「TMD増加群」では「TMD減少群」と比較し、KYN濃度の 20
減少率が大きくなる傾向が有意に見られた (表4)。なお、被験者39名全員の血中KYN濃
度変化率の平均値は-20.130%であったため、「TMD増加群」では相対的にKYN濃度が減少、
逆に「TMD減少群」では相対的に増加していることが明らかとなった。

【表4】

	TMD減少群 KYN変化率(%)	TMD増加群 KYN変化率(%)
	61.066	81.567
	27.416	19.747
	10.775	6.899
	7.343	-17.380
	6.121	-34.833
	-7.601	-48.438
	-19.481	-49.414
	-24.292	-57.356
	-41.041	-59.961
	-58.122	-77.597
平均値	-3.782	-23.677

【0031】

更に、「KYN増加群」及び「KYN減少群」に関し、それぞれの群におけるTMD変化率の平均
値を計算した。その結果、「KYN増加群」ではTMD値が減少、逆に「KYN減少群」ではTMD値
が増加する傾向が有意に見られた (表5)。

【表5】

KYN減少群 TMD変化率(%)	KYN増加群 TMD変化率(%)
35.006	42.486
92.782	-38.994
-6.852	-43.345
83.355	5.435
4.030	39.397
-79.702	-15.571
39.859	-78.763
4.978	-64.934
-5.096	67.753
76.833	-163.457
平均値	24.519
	-24.999

10

【0032】

以上の結果により血中KYN濃度とストレス、特にPOMS試験のTMD値との間で負の相関が存在することが示唆され、ゆえに血中KYN濃度が、例えばPOMS試験のTMD値で表現されるストレスのマーカーとなり得ることが明らかとなった。血中KYN濃度の減少率が大きかった上記10名の被験者「KYN減少群」に対して、休養を採るよう勧告した。

【0033】

(実施例2) 血中TRP濃度変化率と血中KYN濃度変化率の間の相関関係

上記実施例1において被験者となったラグビー部員のうちから19名を無作為抽出し、その合宿前後における血中TRP濃度の変化率と血中KYN濃度の変化率との相関関係について解析を行った。なお、使用した血液のサンプルは、上記実施例1で使用した血液サンプルと同じものである。また血中TRP濃度及び血中KYN濃度の測定は、上記試験例1の条件に従った。その結果、良好な正の相関関係が存在することを見出した(図1)。すなわち血中KYN濃度と同様血中TRP濃度も、ストレスのマーカーとして利用可能であることが明らかとなった。

20

【0034】

【発明の効果】

本発明により、哺乳動物における血中KYN濃度の変化率または血中TRP濃度の変化率率が、ストレスのマーカーとして使用可能であることが明らかとなった。これにより、スポーツ心理学のみならず、産業ストレス、各種疾患の患者の心理状態あるいは薬物療法の効果判定にも応用が可能である。

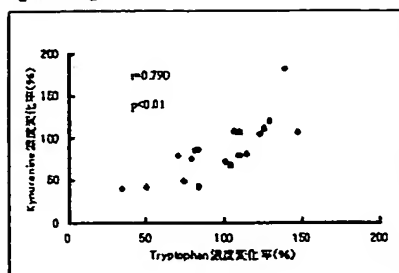
30

【0035】

【図面の簡単な説明】

【図1】運動負荷前後における、血中TRP濃度変化率と血中KYN濃度変化率の間の相関関係を示す説明図である。

【図 1】



フロントページの続き

(72)発明者 中尾 義喜

東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号 オリエンタル酵母工業株式会社内

Fターム(参考) 2G045 AA25 BB07 BB10 CA25 CA26 DA35 DA77 FB06 GC10